

#### 4 讨论

4.1 关于不同温度水浴鼠尾致痛模型 有研究表明麻醉性镇痛药与解热镇痛抗炎药对不同温度水浴所致疼痛的止痛作用差别有显著性意义,吗啡对 45、50、55℃水浴所致疼痛特别是 55℃水浴时仍保持显著的镇痛作用,而布洛芬对 45℃水浴所致疼痛具有镇痛作用,对 50℃水浴所致疼痛的止痛作用明显下降,对 55℃水浴所致疼痛几乎没有止痛作用<sup>[1]</sup>,且与镇痛药的临床药效大致平行,可作为各种镇痛药的临床前药效评定的一种简便、易行、可靠的方法<sup>[2]</sup>,本研究就是利用不同温度水浴所致疼痛的机理不同,分别采用上述两类不同的镇痛药物为阳性对照药,以分析药物的镇痛作用特点及其机理。本研究结果同样表明,45、50、55℃3个温度的水浴中吗啡均表现出显著的镇痛作用,布洛芬仅对 45℃水浴所致疼痛具有镇痛作用,故不同温度水浴致痛模型成功,也表明该模型具有可重复性。

4.2 金铃子散、芍甘汤、痛泻要方属于外周性镇痛药 45℃水浴中,高剂量柴郁汤和芍甘汤、中剂量金铃子散和痛泻要方均能延长痛阈潜伏期,表明他们均具有止痛作用,虽然不及吗啡,但高剂量柴郁汤和芍甘汤在部分时间点上的止痛作用强于布洛芬,其余则与布洛芬相似;50℃水浴中,布洛芬未显示出止痛作用,除柴郁汤在部分时间点上的作用强于布洛芬外,其余中药的止痛作用类似或不及布洛芬;55℃水浴中,布洛芬无镇痛作用,除柴郁汤外,其余中药的止痛作用与布洛芬类似;由于布洛芬主要是抑制外周组织局部 COX 而干扰前列腺素合成,从而发挥镇痛作用,因而我们认为金铃子散、芍甘汤、痛泻要方的镇痛作用特点和机理与布洛芬相似,属于外周性镇痛药。在其他模型上也证实了痛泻要方、金铃子散、芍甘汤的镇痛作用<sup>[3~5]</sup>。

45℃水浴中,高剂量柴郁汤和芍甘汤的镇痛作用均强于金铃子散;50℃水浴中,高剂量柴郁汤的镇痛作用强于金铃子散和痛

泻要方,中、低剂量柴郁汤的镇痛作用分别强于相应剂量的金铃子散、芍甘汤、痛泻要方,故我们认为柴郁汤的镇痛作用强于其他 3 个方剂。

4.3 柴郁汤可能具有中枢性镇痛作用 吗啡对 45、50、55℃3个温度水浴致痛模型均表现出显著的镇痛作用,布洛芬仅对 45℃水浴致痛模型表现出镇痛作用。高、中剂量柴郁汤分别在 45、50℃均有显著的镇痛作用,并且与相应时间点的吗啡的作用无统计学差异;高、中剂量柴郁汤对 55℃水浴所致疼痛仍呈镇痛作用趋势,同时与吗啡的镇痛作用比较未见统计学差异。这表明柴郁汤的作用特点和机理有别于布洛芬,而接近吗啡。

4.4 下一步工作设想 以本研究所用疼痛模型分析中药的作用特点与环节尚未见报道,所获结果对下一步研究有重要的导向作用。欲确证药物的作用机理,则宜用 COX 与阿片受体基因敲除动物观察上述药物的镇痛作用是否存在,如否则可明确药物是通过相应的作用机制而发挥镇痛作用。

#### 参考文献:

- [1] 徐叔云,卞如濂,陈修.药理学实验方法学,第3版[M].北京:人民卫生出版社,2002:887.
- [2] Aydın S, Demir T, Öztürk Y, et al. Analgesic activity of *Nepeta italica* L[J]. *Phytother Res* 1999; 13(1): 20.
- [3] 胡旭光,杨全,洪文,等.慢性内脏痛觉超敏大鼠及热板法疼痛小鼠模型对痛泻要方的镇痛反应[J].中国组织工程研究与临床康复,2007,11(16):3086.
- [4] 冯前进,王世民,冯玛莉,等.理气止痛与活血止痛治则镇痛作用的比较药理学研究(I)——失笑散与金铃子散镇痛作用的研究[J].中国实验方剂学杂志,1999,5(3):12.
- [5] 顾英,冯怡.芍甘汤物质基础及镇痛有效部位研究进展[J].时珍国医国药,2006,17(8):1569.

## 微波消解电感耦合等离子体质谱法测定 3种中药材中 4种重金属含量

刘彦彦<sup>1,2</sup>,李静<sup>1</sup>,王栋<sup>2</sup>,王秀敏<sup>\*</sup>

(1. 厦门大学医学院,福建 厦门 361005; 2. 黑龙江中医药大学药学院,黑龙江 哈尔滨 150040)

**摘要:**目的 建立电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)法测定淫羊藿、当归、黄芪 3 种中药材中铅(Pb)、镉(Cd)、铜(Cu)、砷(As)含量的方法。方法 样品经微波消解,用 ICP-MS 测定淫羊藿、当归、黄芪 3 种中药材中上述 4 种元素含量。结果 对于所测元素,校准曲线的相关系数  $r > 0.9996$ ,回收率为 96.3%~112.0%, $RSD < 7.26\%$ 。测定结果显示,被测的元素含量因不同药材而存在较大差异,各元素的变动范围 Pb 0.3062~0.8062  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , Cd 0.0409~0.0804  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , Cu 14.2600~18.2300  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , As 0.2464~1.1523  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。结论 研究所建立的方法具有简便、快速、准确、灵敏度高的优点,可用于中药材的质量控制。

**关键词:**电感耦合等离子体质谱法; 微波消解; 重金属; 中药材

**中图分类号:** R284.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1008-0805(2009)06-1435-02

### Determination of Four Heavy Metals in Three Traditional Chinese Medicines by ICP-MS

LIU Yan-yan<sup>1,2</sup>, LI Jing<sup>1</sup>, WANG Dong<sup>2</sup>, WANG Xiu-min<sup>\*</sup>

(1. Department of Pharmacological Science, Medical College, Xiamen University, Xiamen 361005 China; 2. School of Pharmacology, Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150040 China)

收稿日期: 2008-06-05 修订日期: 2008-10-15

基金项目: 福建省科技厅重大专项前期研究项目 (Na 2005YZ1025)

作者简介: 刘彦彦 (1983-), 女 (汉族), 黑龙江绥芬河人, 现为黑龙江中医药大学药学院在读硕士研究生, 学士学位, 主要从事中药化学和中药制剂分析研究工作。

\* 通讯作者简介: 王秀敏 (1974-), 女 (汉族), 黑龙江肇州人, 现任厦门大学医学院讲师, 博士学位, 主要从事药物新剂型和药剂教学科研工作。

**Abstract Objective** To establish an ICP-MS method for the determination of heavy metals including Pb, Cd, Cu, As in three traditional Chinese medicines *Herba Epimedi*, *Radix Angelicae Sinensis*, *Radix Astragali*. **Methods** The samples were digested by closed- vessel microwave. The four heavy metals were directly analyzed by ICP-MS. **Results** For all of the analyzed heavy metals, the correlation coefficients of the calibration curves were over 0.999 6. The recovery rates of the procedure were 96.3% ~ 112.0%, and its RSD was lower than 7.26%. Under the given analytical conditions, the results showed that the contents of the four elements varied in these different medicines, for element Pb, ranging between 0.306 2~ 0.806 2  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , Cd 0.040 9~ 0.080 4  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , Cu 14.260 0~ 18.230 0  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , As 0.246 4~ 1.152 3  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , respectively. **Conclusion** This method is convenient, quick, accurate and highly sensitive. The method can be used for the quality control of trace elements in traditional Chinese medicines.

**Key words** ICP-MS; Microwave digestion; Heavy metal; Traditional Chinese medicine

重金属含量超标已成为影响传统中药走向世界的严重问题。常用于重金属元素含量测定的分析方法主要有原子吸收光谱法、原子发射光谱、原子荧光光谱法等。这些方法具有操作过程复杂、耗时长、基体干扰复杂、检出限高、浓度动态范围小、难以进行多元素同时分析、运行成本高等局限性<sup>[1]</sup>。电感耦合等离子体质谱法 (ICP-MS)则是近年来发展最快的无机痕量分析技术之一,可进行多元素同时测定,且干扰少,精度高,线性范围宽,分析速度快,在中药微量元素分析中已被广泛应用<sup>[2]</sup>。样品前处理采用微波消解法,高温密闭系统使消解快速、完全,并且避免易挥发元素如 As、Hg 等元素的损失。本实验采用微波消解-ICP-MS法对淫羊藿、当归、黄芪 3 种中药材进行 4 种重金属含量测定,为这 3 种中药材的质量控制和临床上的安全用药提供科学依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Angilent 7500ce ICP-MS(美国安捷伦公司),MARS5 微波消解系统(美国 CEM 公司),CLASSIC UVF 超纯水系统(英国 ELGA 公司),AL104 电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司)。

1.2 样品来源 淫羊藿、当归、黄芪药材(购于厦门鹭燕大药房)。

1.3 试剂和标准溶液 浓硝酸,30% 过氧化氢均为优级纯(上海国药),超纯水(电阻率 18.2 M $\Omega\cdot\text{cm}^{-1}$ );铅(Pb)、镉(Cd)、铜(Cu)、砷(As)标准溶液(国家标准物质研究中心,100  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )。

2 方法与结果

2.1 微波消解条件 见表 1。

表 1 微波消解条件			
步骤	最大功率 P/W	温度 T/℃	时间 t/min
1	800	25~ 200	15
2	800	200	20

2.2 ICP-MS 测定工作条件 射频功率 1 200 W,采样深度 6.5 mm,等离子气流量 16.0 L $\cdot\text{min}^{-1}$ ,辅助气流量 1.0 L $\cdot\text{min}^{-1}$ ,载气流量 1.0 L $\cdot\text{min}^{-1}$ ,采样锥孔径 1.0 mm,截取锥孔径 0.6 mm,雾化室温度 2℃,数据采集重复次数 3 次。

2.3 标准曲线的绘制 精密吸取一定量的质量浓度为 100  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  含有铅(Pb)、镉(Cd)、铜(Cu)和砷(As)4 种元素标准储备溶液,用超纯水稀释配制质量浓度为 0.10、20、40  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  的标准溶液。用 ICP-MS 测定,获取各种样品相应浓度的系列测定值。以测定值为纵坐标,标准溶液质量浓度为横坐标,绘制标准工作曲线,由此求得各元素的线性方程及相关系数。

2.4 供试品溶液的制备 将中药材置于 60℃ 下干燥 2 h 后,粉碎成粗粉,精密称取 0.200 0 g,置于聚四氟乙烯消解罐中,加入 4 mL HNO<sub>3</sub> 和 0.5 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>。为防止消解过程产生过多气体,致使罐内压力过大爆膜而损失样品,本实验采用先进行预消解 15 min 再按设定程序(见表 1)进行微波消解。消解程序结束后,冷却至常温后,打开密闭消解罐,将消解后溶液转移至 100 mL PET 塑料瓶中,用少量水洗涤消解罐 3 次,洗液合并于瓶中,用

水稀释至刻度,混匀,得供试品溶液,用同样方法制备空白溶液。  
2.5 线性关系 4 种元素测定后绘制的标准曲线,线性关系良好。结果见表 2。

表 2 4 种元素线性关系		
元素	回归方程 Y	相关系数
Pb	43.110X+63.210	0.999 6
Cd	6758X+673.2	1.000 0
Cu	38.740X+134.700	0.999 9
As	5.020X+499	1.000 0

2.6 重复性实验 取黄芪药材 0.200 0 g 按“2.4”项方法操作,平行实验 5 次,计算 RSD 为 1.47% ~ 2.32%。

2.7 加样回收率实验 取上述重复性试验用样品 0.200 0 g 按“2.4”项步骤操作,精密加入相应的对照品溶液,平行试验 5 次,测定加样回收在 96.3% ~ 112.0%,RSD < 7.26%。

2.8 样品测定 按“2.2”项条件下,采用 ICP-MS 法,对 3 种中药材中重金属元素进行含量测定,每份样品平行测定 3 次。结果如表 3~ 5 所示。

表 3 淫羊藿中 4 种重金属含量 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$				
编号	Pb	Cd	Cu	As
1	0.806 2	0.067 2	17.920 0	1.135 6
2	0.795 2	0.070 6	17.410 0	1.135 3
3	0.781 2	0.067 5	18.230 0	1.152 3
平均值	0.794 2	0.068 4	17.853 3	1.141 1
RSD (%)	1.58	2.75	2.32	0.853

表 4 当归中 4 种重金属含量 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$				
编号	Pb	Cd	Cu	As
1	0.781 7	0.076 3	14.386 0	0.303 8
2	0.792 3	0.080 4	15.040 0	0.311 0
3	0.801 3	0.078 9	14.260 0	0.296 0
平均值	0.791 8	0.078 5	14.562 0	0.303 6
RSD (%)	1.24	2.61	2.88	2.47

表 5 黄芪中 4 种重金属含量 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$				
编号	Pb	Cd	Cu	As
1	0.323 8	0.040 9	16.149 0	0.246 4
2	0.315 9	0.041 5	15.968 0	0.248 5
3	0.306 2	0.042 6	16.323 0	0.254 5
平均值	0.314 3	0.041 7	16.146 7	0.249 8
RSD (%)	2.36	2.12	1.10	1.69

3 讨论

《中国药典》2005 版首次规定了西洋参、白芍、甘草、丹参、金银花、黄芪药材的重金属含量限量标准:铅  $\leq 5.0\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,镉  $\leq 0.3\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,汞  $\leq 0.2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,砷  $\leq 2.0\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,铜  $\leq$

20.0 mg·kg<sup>-1</sup>[3]与现行《药用植物及制剂进出口绿色行业标准》限量指标相一致。淫羊藿、当归、黄芪 3 种中药材的 4 种重金属含量符合限量标准, 适用于进一步进行复方淫羊藿滴丸制剂的研究。

参考文献:

[ 1 ] 李文龙, 荆 森, 陈军辉, 等. 微波消解 - ICP- MS 测定 40 种中药

材中的 5 种有毒元素 [ J ]. 分析实验室, 2008, 27( 2 ): 6  
[ 2 ] 温慧敏, 陈晓辉, 董婷霞, 等. ICP- MS 法测定 4 种中药材中重金属含量 [ J ]. 中国中药杂志, 2008 31( 16 ): 1314  
[ 3 ] 国家药典委员会. 中国药典, I 部 [ S ]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 212

马齿苋合剂水提液抗单纯疱疹病毒 2 型的实验研究

刘建国, 喻国华, 廖 燕, 曾怡春  
(江西中医药高等专科学校, 江西 抚州 344000)

摘要: 目的 观察马齿苋合剂水提液对单纯疱疹病毒 2 型 (HSV- 2) 的抑制作用。方法 马齿苋水提液作用于 Hep- 2 Vero 细胞和原代兔肾 (PRK) 3 种细胞上研究其抗病毒作用。结果 马齿苋合剂水提液在 Hep- 2 Vero 细胞和 PRK 细胞上均有明显的抗 HSV- 2 作用, 对 HSV- 2 的最小有效浓度 (MTC) 为 0.5 mg/ml 而且毒性低, 最大无毒浓度 (TDO) 为 12 mg/ml 治疗指数 (TI) 为 30.0 并有直接杀灭 HSV- 2 的作用。结论 马齿苋合剂水提液具有抗 HSV- 2 作用。

关键词: 马齿苋合剂水提液; 单纯疱疹病毒 2 型

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1008-0805(2009)06-1437-02

Experimental Studies on Anti- HSV- 2 Effect of Purslane Mixture Water Extract

LIU Jian-guo YU Guo-hua LIAO Yan ZENG Yi-chun  
(Jiangxi High Training School of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, Jiangxi 344000, China)

Abstract Objective To study the inhibitive effect of Purslane mixture water extract on HSV- 2 Methods The anti- virus effect was observed on Hep- 2 Vero and PRK cells after treated with Purslane mixture water extract Results The water extract from Purslane mixture possessed distinct anti- HSV- 2 effect The MTC was 0.5 mg/ml TDO was 12 mg/ml and TI was 30.0 It possessed low toxicity and direct killing- virus effect on HSV- 2 Conclusion Purslane mixture water extract possesses anti- HSV- 2 effect

Key words Purslane mixture water extract Herpes simplex virus2 (HSV- 2); Experimental study

HSV- 2 是一种常见的传染性病原体, 可引起生殖道疱疹、病毒性脑炎等多种疾病, 而且是宫颈癌的协同诱因。马齿苋 *Portulaca oleracea* L 又名马齿草 (《雷公炮炙论》), 马苋 (《本草经集注》), 长命菜 (《中国药用植物图鉴》), 为马齿苋科植物马齿苋的全草, 生于田野路边及庭院废墟等向阳处, 分布于全国大部分地区。国内对马齿苋的研究<sup>[1]</sup>多集中于马齿苋的化学成分和抗菌作用的研究, 但有关马齿苋合剂水提液的抗病毒实验研究很少。本文对马齿苋合剂水提液抗单纯疱疹病毒 2 型的药效进行了实验研究。现报道如下。

- 1 材料
- 1.1 细胞 Hep- 2 非洲绿猴肾细胞 (Vero 细胞) 和原代兔肾细胞 (PRK) 3 种细胞引自江西省卫生防疫站, 均用 Eagle 培养基传代培养。PRK 取自 10 d 内的乳兔, 常规方法制备细胞, 用 5% 乳蛋白水解物培养。
- 1.2 病毒 HSV- 2 333 株由南昌大学医学院病毒研究所提供, Vero 细胞于 RPM I- 1640 基础培养液中加入 10% 的新生牛血清, 100 U/ml 青霉素, 100 μg/ml 链霉素, 置 5% CO<sub>2</sub> 孵箱中 37℃ 培养, 3 d 传代 1 次。滴度为 TCID<sub>50</sub> = 10<sup>5</sup>, 实验用 10<sup>3</sup> TCID<sub>50</sub>/ml
- 1.3 药物 马齿苋 (购于江西中医药高等专科学校附属医院中药房) 40 g 配合黄芪 60 g 放入 500 ml 三角烧瓶, 加入双蒸水 200 ml 浸泡过夜, 经水连续提取 3 次, 合并 3 次提取液共 400 ml 56℃ 水浴浓缩至 100 ml 抽滤除菌, 分装小瓶放 - 20℃ 冰箱保存备

- 用。无环鸟苷滴眼液 (ACV) (湖北潜江制药股份有限公司生产, 批号 H 1993456), 用 Hank's 稀释成不同浓度, 放置冰箱保存备用。
- 2 方法
- 2.1 细胞毒性实验 将已长满单层的 Hep- 2 细胞、Vero 细胞和 PRK 去生长液, 换成含 2% 小牛血清的 MEM 维持液, 每瓶细胞分别加入不同浓度的马齿苋合剂水提液 (0.5 ~ 12 mg/ml) 0.1 ml 每一浓度的药物均重复 4 瓶, 并设未加药物的细胞做正常对照。置 37℃ 培养箱中培养 144 h 每天观察细胞的变化情况, 并记录结果。
- 2.2 病毒感染性滴度的测定 将不同稀释度的 HSV- 2 接种细胞, 每管 0.1 ml 每个稀释度 4 瓶, 37℃ 吸附 1 h 弃上清液, 加 2% 小牛血清的 MEM 培养液 1 ml 置 37℃ 培养, 每日检查病毒生长情况, 观察特征性细胞病毒 (CPE), 7 d 后记录结果。CPE 记录方法: “-”为无 CPE; “±”为可疑; “+”为 25% 的细胞出现 CPE; “++”为 50% 的细胞出现 CPE; “+++”为 75% 的细胞出现 CPE; “++++”为 100% 的细胞出现 CPE。
- 2.3 药物体外对病毒增殖的抑制作用 将病毒接种于已长满单层的细胞瓶上, 每瓶接种 10<sup>3</sup> TCID<sub>50</sub>/ml HSV- 2 病毒液 0.1 ml 37℃ 吸附 1 h 弃上清液后, Hank's 液洗 3 次, 每一瓶加入含不同浓度的药物 0.1 ml 加维持液 0.9 ml 每个浓度药物均重复 4 瓶, 并设置未加药物的病毒对照和细胞对照。然后置 37℃ 培养箱中培养。每日观察 CPE, 当病毒对照达到 “++++” 时, 判定结果, 使病变减少两个 “+” 为有效。
- 2.4 药物对病毒的直接杀伤作用 将不同浓度的药物与 10<sup>3</sup> TCID<sub>50</sub>/ml 病毒液等量混合后于 37℃ 培养 12、24、48 和 96 h 后, 将混合液分别接种长满单层的瓶内, 每一浓度的药物均重复

收稿日期: 2008-07-31 修订日期: 2008-11-20  
基金项目: 江西省中医药科技攻关项目资助课题 (Na 2006A40)  
作者简介: 刘建国 (1968-) 男 (汉族), 江西丰城人, 现任江西中医药高等专科学校讲师, 副主任中医师, 学士学位, 主要从事皮肤性病临床和实验研究工作。